

22.12.99

ST/NL 99/007 55
09/857/796

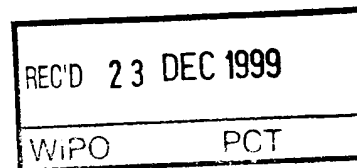
KONINKRIJK DER



NEDERLANDEN

[Handwritten signature]
#3

Bureau voor de Industriële Eigendom



Hierbij wordt verklaard, dat in Nederland op 9 december 1998 onder nummer 1010770,
ten name van:

N.V. NUTRICIA

te Zoetermeer

een aanvraag om octrooi werd ingediend voor:

"Preparaat dat oligosacchariden en probiotica bevat",

en dat de hieraan gehechte stukken overeenstemmen met de oorspronkelijk ingediende stukken.

BEST AVAILABLE COPY

Rijswijk, 22 december 1999.

De Directeur van het Bureau voor de Industriële Eigendom,
voor deze,

[Handwritten signature]
A.W. van der Kruk.

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

10 10770
B. v.d. I.E.

- 9 DEC. 1998

Uittreksel

- De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een preparaat met gezondheid-
- 5 bevorderende werking, in het bijzonder voor het voorkomen en/of behandelen van aandoeningen van het spijsverteringskanaal, dat een of meer probiotica en een of meer onverteerbare oligosacchariden bevat. De probiotica worden bij voorkeur gekozen uit bacteriestammen zoals een stam van een *Lactobacillus*- of een *Bifido-*
bacterium-soort en uit giststammen zoals een stam van een *Saccharomyces*-soort.

Preparaat dat oligosacchariden en probiotica bevat

5 De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een preparaat met gezondheidbevorderende werking, in het bijzonder voor het voorkomen en/of behandelen van aandoeningen van het spijsverteringskanaal, meer in het bijzonder van de darm.

De aanvraag heeft in het bijzonder betrekking op een dergelijk preparaat dat probiotica en onverteerbare oligosacchariden bevat.

10 Het is bekend dat bepaalde micro-organismen zowel een profylactisch als therapeutisch effect op darmziekten zoals darminfecties hebben. Wanneer deze micro-organismen worden toegediend aan mensen of dieren zullen zij met pathogene bacteriën concurreren om voedingsstoffen en/of aanhechtingsplaatsen op de darmwand, waardoor het aantal pathogene bacteriën zal afnemen en infecties worden
15 voorkomen of verminderd. Dergelijke micro-organismen worden in het algemeen aangeduid met het begrip "probiotica".

Voor een optimale werking van deze micro-organismen dienen deze levend de darm te bereiken. Een verder gunstig effect van het toedienen van levende micro-organismen aan de darm is bijvoorbeeld dat zij de aldaar aanwezige oligosacchariden
20 kunnen fermenteren, waarbij bijvoorbeeld vetzuren met korte keten kunnen worden gevormd.

Daarnaast is het om economische redenen gunstig wanneer zoveel mogelijk micro-organismen levend de darm bereiken. Met de gebruikelijke preparaten die probiotica bevatten is het percentage micro-organismen dat levend de darm bereikt
25 vaak gering.

Het is daarom een doel van de onderhavige uitvinding een preparaat te verschaffen dat dergelijke probiotica bevat, waarbij een hoog percentage van de toegediende micro-organismen levend de darm bereikt.

Het is tevens een doel van de onderhavige uitvinding een preparaat te verschaffen dat kan worden gebruikt voor de behandeling van aandoeningen van de darm en/of dat kan worden gebruikt voor profylactische behandeling van de darm.
30

De onderhavige uitvinding betreft nu een preparaat met gezondheidbevorderende werking, in het bijzonder voor het voorkomen en/of behandelen van aandoe-

ningen van het spijsverteringskanaal, meer in het bijzonder van de darm, dat probiotica en onverteerbare oligosacchariden bevat.

Zonder aan enige theorie gebonden te willen zijn, wordt aangenomen dat de oligosacchariden een substraat voor de probiotica vormen, waardoor de kans dat deze
 5 micro-organismen levend de darm bereiken groter wordt, en waardoor de kans dat ze in combinatie met de in de darm aanwezige oligosacchariden hun gunstige werking kunnen uitoefenen toeneemt. De oligosacchariden zouden derhalve ook kunnen worden aangeduid als "prebiotica".

De probiotica en onverteerbare oligosacchariden zijn in het preparaat aanwezig
 10 in een verhouding van 1 tot 5 g oligosacchariden per 10^8 tot 10^{11} cellen van het probioticum.

De gebruikte oligosacchariden worden gekozen uit de zgn. "onverteerbare oligosacchariden", d.w.z. oligosacchariden die niet door het menselijk of dierlijk lichaam worden opgenomen. Deze oligosacchariden hebben in de regel een polymeri-
 15 satiegraad van 2 tot 20. Dit houdt in dat de oligosacchariden bestaan uit 2 tot 20 monosaccharide-eenheden. Bij een polymerisatiegraad kleiner dan 2, dat wil zeggen bij het monosaccharide, is het preparaat niet werkzaam aangezien dergelijke monosacchariden door het menselijk of dierlijk lichaam worden opgenomen. Bij een polymerisatiegraad groter dan 20 verliezen de oligosacchariden hun gunstige werking.

20 Bij voorkeur hebben de oligosacchariden een polymerisatiegraad van 2 tot 10, met nog meer voorkeur van 2 tot 6, meer in het bijzonder 3 tot 10, met meer voorkeur 3 tot 6.

Wanneer in de onderhavige aanvraag wordt gesproken over oligosacchariden wordt hiermee zowel oligosacchariden met één bepaalde ketenlengte als mengsels van
 25 oligosacchariden met verschillende ketenlengten bedoeld. De voorkeur gaat echter uit naar een mengsel van oligosacchariden met verschillende ketenlengte.

Verder bestaan de oligosacchariden doorgaans niet geheel uit disacchariden. Het gehalte aan disacchariden is meestal minder dan 90%, soms minder dan 60%.

De gemiddelde polymerisatiegraad is in de regel meer dan 2,1, doorgaans
 30 meer dan 2,5.

De bij de uitvinding toegepaste oligosacchariden worden in de regel verder zodanig gekozen, dat zij voor ten minste 20% bruikbaar zijn als substraat voor de in het preparaat aanwezige probiotische micro-organismen, zoals bepaald volgens high

performance anion exchange chromatography.

Voorbeelden van geschikte oligosacchariden zijn transgalacto-oligosacchariden (TOS), fructo-oligosacchariden (FOS), en combinaties hiervan.

Het is bijzonder gunstig wanneer de oligosacchariden aan het preparaat
 5 worden toegevoegd in de vorm van een hydrolysaat van een of meer polysacchariden, bijvoorbeeld gekozen uit β -(arabino)galactanen, β -(arabino)xylanen, β -glucanen, β -glucomannanen, β -galactomannanen, α -arabanen, inuline, en combinaties hiervan. Een dergelijk hydrolysaat kan naast de oligosacchariden ook nog andere componenten bevatten zoals monosacchariden en sacchariden met een hogere polymerisatiegraad
 10 dan 20. Het hydrolysaat dient echter ten minste 50% onverteerbare oligosacchariden te bevatten, bij voorkeur ten minste 70%.

De polysacchariden die bij voorkeur gehydrolyseerd worden zijn β -(arabino)galactanen, β -mannanen, en xylanen.

Ook kan een hydrolyseproduct worden gebruikt van een of meer vezels die
 15 voor het merendeel uit de bovengenoemde oligosacchariden zijn opgebouwd, zoals vezels uit haver, tarwe, aardappel, suikerbiet, soyapolysacchariden en dergelijke.

De hydrolyse van de polysaccharide(n) en/of de vezel(s) kan op een op zichzelf bekende wijze worden uitgevoerd, bijvoorbeeld door de toepassing van geschikte enzymen.

20 De concentratie oligosacchariden in het preparaat is zodanig dat per dag 0,5 tot 20 gram kan worden toegediend. Indien dit gewenst is, kan deze toediening over de dag worden gespreid, zolang het totaal van de toegediende oligosacchariden binnen het hiervoor beschreven traject blijft. In het algemeen zal het preparaat 2 tot 4 keer per dag worden toegediend.

25 In het algemeen zullen de oligosacchariden 5 gew.% tot 50 gew.% van het totale preparaat uitmaken.

De voor de onderhavige uitvinding geschikte probiotica zijn algemeen bekend. Zij omvatten in het algemeen een of meer voor toepassing in voedingspreparaten geschikte bacteriestammen, zoals voor toepassing in voedingspreparaten geschikte
 30 melkzuurbacteriën, of een of meer voor toepassing in voedingspreparaten geschikte giststammen, of een combinatie hiervan. Deze probiotica zullen meestal de status GRAS ("Generally Recognized As Safe") hebben.

Geschikte bacteriestammen worden bijvoorbeeld gekozen uit die welke

worden beschreven in de Europese aanvraag 97202900.3 van aanvraagster. Andere mogelijke probiotica zijn de soorten der *Pediococce*n, *Propionibacterië*n of *Leuconostoc*. De voorkeur verdienen de geslachten *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, en combinaties hiervan.

- 5 Als de *Bifidobacterium* stam kan iedere stam worden gebruikt die geschikt is voor, en bij voorkeur ook goedgekeurd is voor, toediening aan mensen en dieren, zoals *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis* of *Bifidobacterium longum*, of een combinatie daarvan.

De *Lactobacillus* stam wordt bij voorkeur zodanig gekozen dat deze voornamelijk, bij voorkeur uitsluitend rechtsdraaiend (L+) lactaat produceert. Hiermee wordt
10 bedoeld dat van het geproduceerde lactaat minder dan 5 %, bij voorkeur minder dan 2% linksdraaiend lactaat is. Het is natuurlijk mogelijk dat het micro-organisme naast lactaat andere metaboliëten produceert, en de gunstige werking van het micro-organisme kan (tevens) op de vorming van deze verdere metaboliëten berusten.

- 15 Voorbeelden hiervan zijn *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus (para)casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* en *Lactobacillus rhamnosus*, en combinaties hiervan.

Als de bij de uitvinding toegepaste giststam kan iedere stam worden gebruikt die geschikt is voor, en bij voorkeur ook goedgekeurd is voor, toediening aan mensen
20 en dieren, zoals van het geslacht *Saccharomyces*. Voorbeelden van geschikte *Saccharomyces*-soorten zijn *Saccharomyces cerevisiae* en *Saccharomyces boulardii*.

De gist in het preparaat kan levend of dood zijn. Zowel dode als levende gist bevat een hoog gehalte aan mannoproteïnen, die in sterke mate de hechting van bacteriëen aan de darmwand kunnen voorkomen. Toediening van dode gist biedt
25 voordelen bij mensen die lijden aan inflammatoire darmziekten.

Wanneer de gist in dode vorm wordt gebruikt, dient ten minste een ander levend micro-organisme te worden toegepast. Dit levend organisme kan weer worden gekozen uit zowel de stammen *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Pediococce*n, *Propionibacterië*n als *Leuconostoc*, maar kan ook levend *Saccharomyces* zijn.

- 30 Er kan zowel een enkel micro-organisme als een mengsel van micro-organismen worden gebruikt.

De totale concentratie van de probiotica is 10^6 tot 10^{12} , bij voorkeur 10^9 tot 10^{10} levende cellen per gram totaal produkt. Wanneer een combinatie van micro-

organismen wordt gebruikt, geldt dat de minimale concentratie van elk van de micro-organismen zodanig moet zijn dat nog gesproken kan worden van levende organismen, dat wil zeggen minimaal ongeveer 10 per gram produkt. De totale concentratie micro-organismen dient steeds binnen het hiervoor vermelde traject van 5 10^6 tot 10^{12} levende cellen per gram totaal produkt te liggen.

Wanneer eveneens dood *Saccharomyces cerevisiae* wordt toegepast, wordt dit in een hoeveelheid van 0,5 tot 5 g per dag toegediend.

Een bijzonder geschikte combinatie van oligosaccharide en probioticum blijkt de combinatie van *Lactobacillus rhamnosus* met transgalacto-oligosaccharide of 10 hydrolysaten van (aardappel)galactaan te zijn.

De geschiktheid van een bepaald oligosaccharide voor een bepaald probioticum kan worden bepaald door het vermogen te meten van het betreffende micro-organisme om dat oligosaccharide of die oligosaccharidefractie te fermenteren. Een specifieke methode hiervoor is hierna bij de voorbeelden weergegeven.

15 De toedieningsvormen van de preparaten volgens de uitvinding zijn in de regel analoog aan die welke zijn beschreven in de Europese aanvraag 97202900.3 van aanvrager, waarvan de inhoud hierin door verwijzing is opgenomen. Hierbij dient opgemerkt te worden dat volgens de onderhavige uitvinding ook slechts één probiotisch micro-organisme (waaronder een gist) aanwezig kan zijn, en dat naast de een of 20 meer probiotische micro-organismen tevens een of meer oligosacchariden worden opgenomen, in de hierboven vermelde hoeveelheden.

De preparaten volgens de onderhavige uitvinding kunnen onder andere worden toegediend in de vorm van een voedingssupplement, een totale voeding en een klinische voeding. Voor de specifieke additieven die aan dergelijke voedingen worden 25 toegevoegd, de bereiding en de toepassingen van dergelijke voedingen wordt eveneens verwezen naar de Europese aanvraag 97202900.3.

De probiotica worden bij voorkeur in ge(vries)droogde vorm aan het preparaat toegevoegd. Het is ook mogelijk vloeibare preparaten te vervaardigen, maar deze dienen gekoeld bewaard te worden. Verder kunnen een of meer van de micro- 30 organismen in ingekapselde vorm worden gebruikt, bijvoorbeeld voor het verbeteren van de houdbaarheid.

Wanneer het preparaat volgens de uitvinding wordt gebruikt als voedings-supplement, kan het als zodanig kan worden toegediend, kan het worden gemengd

met een geschikte drinkbare vloeistof zoals water, yoghurt, melk of vruchtesap, of kan het worden gemengd met vast of vloeibaar voedsel. Hierbij kan het voedingssupplement in de vorm zijn van tabletten, capsules, poeders, sachets, pastilles, snoepjes, repen en overeenkomstige toedieningsvormen, doorgaans in de vorm van een eenheidsdosering.

Een supplement volgens de uitvinding kan bijvoorbeeld de volgende samenstelling hebben:

- probiotica: 10 - 40 gew. %
- oligosacchariden: 40 - 80 gew. %
- 10 - verdere toevoegsels: 0 - 40 gew. %, tot een totaal van 100 gew. %

Het preparaat kan ook in de vorm zijn van een voedingspreparaat dat geschikt is voor directe consumptie, zoals een totale of klinische voeding. Dit kan zowel een orale voeding als een voeding voor toediening via een buis of catheter zijn.

15 Dergelijke voedingen kunnen in vaste vorm of vloeibare/drinkbare vorm zijn, en kunnen alle gebruikelijke toevoegsels voor (totale en/of klinische) voedingen bevatten, waaronder eiwitten, vitaminen, mineralen, spore-elementen en dergelijke.

Een totale voeding volgens de uitvinding kan bijvoorbeeld de volgende samenstelling hebben:

- 20 - probiotica: 0,1 - 10 gew. %
- oligosacchariden: 1 - 20 gew. %
- verdere toevoegsels: 75 - 95 gew. %, tot een totaal van 100 gew. %.

Volgens een bijzondere uitvoeringsvorm is het preparaat volgens de uitvinding 25 in de vorm van een (supplement voor een) zuigelingenvoeding of een voedingssupplement voor zuigelingen.

De hiervoor beschreven preparaten kunnen worden gebruikt voor dezelfde toepassingen als omschreven in de Europese aanvraag 97202900.3 van aanvrager, in het bijzonder bij de behandeling van aandoeningen van de darm zoals diarree zoals 30 kan optreden bij reizen, na behandeling met antibiotica of die het gevolg is van voedselvergiftiging. Een andere toepassing is bij de behandeling van inflammatoire darmziekten (IBD), zoals colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn. De preparaten volgens de uitvinding zijn eveneens geschikt voor patiënten met een voedselallergie,

zoals een allergie voor koemelk of voor gluten.

Tevens kunnen de probiotica en onverteerbare oligosacchariden gebruikt worden in zuigelingenvoeding ter voorkoming of behandeling van darmproblemen.

De uitvinding wordt nu toegelicht aan de hand van de volgende niet-beper-
5 kende voorbeelden.

Voorbeelden

Om geschikte combinaties van oligosacchariden en probiotica te bepalen, werden de hierna weergegeven micro-organismen getest op hun vermogen structureel
10 verschillende oligosaccharidefracties te fermenteren. Stammen voorgekweekt in vloeibaar medium op basis van thioglycolaat (Oxoid, Unipath LTD, Basingstoke, Hampshire, UK) werden aan subkweek onderworpen in thioglycolaat waaraan 0.5% (w/v) oligosacchariden waren toegevoegd. Het suikervrije thioglycolaat-medium alsmede de oligosaccharide-oplossingen werden afzonderlijk 15 minuten bij 121 °C
15 gesteriliseerd.

Na anaërobe incubatie gedurende 48 uur bij 37 °C werd de pH gemeten met behulp van een micro-pH meter (Sentron, Roden, Nederland). De veranderingen in het gehalte resterende oligosacchariden, en de vorming van reactieproducten werden gemeten met HPAEC (High Performance Anion Exchange Chromatography). Voor
20 de HPAEC analyse werden de kweken gecentrifugeerd, werd het supernatans 10 keer verdund met H₂O en 5 minuten gekookt om de enzymatische activiteit te stoppen. Voor en na fermentatie werd de zuiverheid van de stammen gecontroleerd.

Het HPAEC systeem bestond uit een Dionex Bio-LC GPM-II quartenaire gradiëntmodule (Dionex Corporation, Sunnyval, CA, USA) uitgerust met een Dionex
25 Carbopac PA-100 kolom (4 * 250 mm) in combinatie met een Carbopac PA-100 guard kolom (3 * 25 mm). De monsters (20 µl) werden geïnjecteerd met een Spectra Physics SP8880 autosampler. De oligomeren werden geanalyseerd met een gradiënt van natriumacetaat in 100 mmol.l⁻¹ NaOH.

De resultaten van deze experimenten zijn hierna in de tabel weergegeven voor
30 een aantal combinaties van probiotica en substraten, waarbij:

- ++ staat voor volledige fermentatie
- + staat voor gedeeltelijke fermentatie
- staat voor geen of zeer beperkte fermentatie

	Bacteriën	Substraat			
		Hydrolysaten van:			
		Arabino- galactanen	Arabanen	Arabino- xylanen	Fructanen
	Bi. Breve	++	+	-	++
5	Bi. Longum	++	++	+	++
	Bi. adolescentis	++	+	++	++
	L. acidophilus	++	-	-	+
	L. fermentum	++	-	-	+
	K. pneumoniae	++	-	-	+
10	C. perfringens	-	-	-	++

Hierna worden enkele voorbeelden weergegeven van preparaten volgens de
15 onderhavige uitvinding.

Voorbeeld I: Supplement

Een suspensie van *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 (Lb) werd gevries-
droogd, waarbij een poeder werd verkregen met ten minste 10^9 levensvatbare cellen
20 per gram poeder. Transgalacto-oligosacchariden (TOS), verkregen uit lactose
(Borculo Whey Products), werden opgelost in water van 40°C tot een vaste stoffen-
gehalte van 25%, en deze oplossing werd gesproeidroogd. Beide poeders werden
gemengd in een verhouding TOS/Lb = 4/1 tot een homogeen product werd verkre-
gen. Sachets werden gevuld met 2-5 g van dit mengsel, afhankelijk van het dose-
25 ringsregime (5 g voor één sachet per dag; 3 g voor 2 sachets per dag). De inhoud van
een sachet kan bijvoorbeeld gemengd met een glas sinaasappelsap of melk worden
ingenomen.

Voorbeeld II: Synbiotische reep

30 Een reep van 23 g werd bereid uit 4,0 g havervlokken, 4,0 g tarwevlokken,
3,0 g gepofte rijst, 1,0 g opgebroken hazelnoten, 0,25 g honing, 3,0 g rozijnen, 1,5 g
maltodextrine, 1,0 g gevriesdroogde *Lb rhamnosus*, 0,5 g bakkersgist (*Saccharomyces*

cerevisiae; Gist Brocades), en 5,0 g transgalacto-oligosacchariden.

Voorbeeld III: Werkwijze voor het hydrolyseren van plantaardige vezels

Een 20% suspensie in water van vezels, bijvoorbeeld uit tarwe, aardappel,
 5 haver, soya-polysacchariden, johannesbroodgom, of suikerbiet werd bereid. Deze
 vezelbronnen zijn commercieel verkrijgbaar. De suspensie werd verhit tot een
 temperatuur tussen 20 en 50°C (bij voorkeur 35-45°C) waarna enzymen werden
 toegevoegd in een hoeveelheid van 1 deel enzym per 5-500 delen (w/w) substraat. De
 keuze van het soort enzym is afhankelijk van het soort polysaccharide. Voorbeelden
 10 van geschikte enzymen zijn Novoform, Pectinex Ultra s.p.-L, Pentopan en Ultra.s.p.
 (NOVO).

Na 0,5-4 uur werd de reactie beëindigd door verhitten, waarna de aldus
 verkregen oplossing kan worden gebruikt als de oligosaccharide-fractie in de
 preparaten volgens de uitvinding, eventueel na verdere filtratie/zuivering of na
 15 concentreren.

Voorbeeld IV: Synbiotisch mengsel voor mengen met een complete enterale klinische voeding.

Een moedercharge van een poedermengsel werd bereid volgens de werkwijze
 20 van voorbeeld I. Het poeder bestond uit 20% gehydrolyseerde, tarwe-arabinoxylanen,
 20% gehydrolyseerde aardappel-arabinogalactanen, 20% gehydrolyseerde johannes-
 broodgom, 20% gehydrolyseerde suikerbietvezel (arabanen), 15% gehydrolyseerde
 haver vezels (glucanen) en 5% *Bifidobacterium longum*. 5 g van het poedermengsel
 wordt in een sachet gebracht. De inhoud van dit sachet kan maximaal 30 min. voor
 25 gebruik aan een standaard enterale klinische voeding worden toegevoegd.

Voorbeeld V: Synbiotisch poedermengsel voor het versterken van zuigelingen-voeding.

Een synbiotisch mengsel werd bereid volgens de werkwijze van Voorbeeld I.
 30 De samenstelling omvat 10% bakkersgist (Gist Brocades), 40% mannoproteinen,
 verkregen uit gist, 25% inuline en 25% raffinose.

Voorbeeld VI: Snoep dat een synbiotisch mengsel omvat.

Een snoepje van 2 g werd bereid, uitgaande van 58% verteerbare koolhydraten (glucosesiroop), 35% TOS, 4% *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, en 2% smaak- en kleurstoffen.

Conclusies

- 5 1. Preparaat met gezondheidbevorderende werking, in het bijzonder voor het voorkomen en/of behandelen van aandoeningen van het spijsverteringskanaal, dat een of meer probiotica en een of meer onverteerbare oligosacchariden bevat.
2. Preparaat volgens conclusie 1, waarbij de oligosacchariden een polymerisatie-
10 graad van 2 tot 20, bij voorkeur van 2 tot 10, met nog meer voorkeur van 2 tot 6 hebben.
3. Preparaat volgens conclusie 1 of 2, waarbij de oligosacchariden zijn verkregen uit de hydrolyse van een of meer polysacchariden, gekozen uit gekozen uit β -
15 (arabino)galactanen, β -(arabino)xylanen, β -glucanen, β -glucomannanen, β -galactomannanen, α -arabanen, inuline, en combinaties hiervan.
4. Preparaat volgens conclusie 3, waarbij de polysacchariden worden gekozen uit β -(arabino)galactanen, β -mannanen, en xylanen, en combinaties hiervan.
- 20 5. Preparaat volgens conclusie 1 of 2, waarbij de oligosacchariden afkomstig zijn uit de hydrolyse van een of meer vezels, zoals vezels afkomstig uit haver, tarwe, aardappel, suikerbiet, soyapolysacchariden en dergelijke.
- 25 6. Preparaat volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij de probiotica ten minste een bacteriestam of ten minste een giststam, of een combinatie van ten minste een bacteriestam en ten minste een giststam omvatten.
7. Preparaat volgens een van de voorgaande conclusies, waarbij ten minste een
30 van de bacteriestammen wordt gekozen uit een of meer stammen van een *Lactobacillus*- of een *Bifidobacterium*-soort en de giststam een stam van een *Saccharomyces*-soort is.

8. Preparaat volgens een van de voorgaande conclusies, dat voorts dode gistcellen omvat.

9. Preparaat volgens een der voorafgaande conclusies, waarbij verhouding tussen
5 de een of meer probiotica en de een of meer onverteerbare oligosacchariden in het bereik van 1 tot 5 g oligosacchariden per 10^8 tot 10^{11} cellen van het probioticum ligt.

10. Preparaat volgens een van de voorgaande conclusies, dat de probiotica in een concentratie van 10^7 tot 10^{11} levende cellen per gram totaal product bevat.